



PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

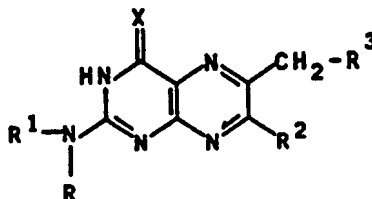
| | | |
|--|--|---|
| <p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A61K 31/505</p> | A1 | <p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 95/31987</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 30. November 1995 (30.11.95)</p> |
| <p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP95/01731</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 6. Mai 1995 (06.05.95)</p> <p>(30) Prioritätsdaten: P 44 18 096.9 24. Mai 1994 (24.05.94) DE</p> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Brüningstrasse 50, D-65929 Frankfurt am Main (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): PFLEIDERER, Wolfgang [DE/DE]; Lindauer Strasse 47, D-78464 Konstanz (DE). SCHMIDT, Harald [DE/DE]; Lorettoweg 19, D-97337 Dettelbach (DE). HENNING, Rainer [DE/JP]; Sannencho Building 3F, 40-17, Nishihara 3-chome, Shibuya-ku, Tokyo 151 (JP).</p> <p>(74) Anwalt: MULEY, Ralf; Hoechst Aktiengesellschaft, Werk Cassella, Hanauer Landstrasse 526, D-60386 Frankfurt am Main (DE).</p> | <p>(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p> | |

(54) Title: USE OF PTERIDINE DERIVATIVES AS NO-SYNTASE INHIBITORS

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON PTERIDIN-DERIVATEN ALS HEMMSTOFFE DER NO-SYNTASE

(57) Abstract

The present invention relates to the use of pteridine derivatives of general formula (I) in which X is O, NH or N-(C₁-C₅)-alkanoyl, R³ is the radical -OR⁴, -NH⁵R⁶ or -S(O)_mR⁷ and R, R¹, R², R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ and m have the meanings given in claim 1, which are NO-synthase inhibitors, for the treatment of diseases caused by a high nitrogen monoxide level.



(I)

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Pteridin-Derivaten der allgemeinen Formel (I), in der X für O, NH oder N-(C₁-C₅)-Alkanoyl steht, R³ für den Rest -OR⁴, -NR⁵R⁶ oder -S(O)_mR⁷ steht und R, R¹, R², R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ und m die im Anspruch 1 angegebenen Bedeutungen haben, die Hemmstoffe der Stickstoffmonoxid-Synthase sind, zur Behandlung von Krankheiten, die durch einen erhöhten Stickstoffmonoxid-Spiegel bedingt sind.

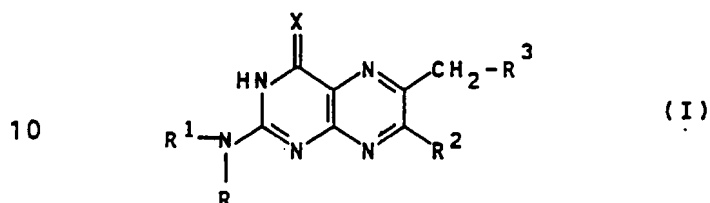
LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

| | | | | | |
|----|--------------------------------|----|-----------------------------------|----|--------------------------------|
| AT | Österreich | GA | Gabon | MR | Mauretanien |
| AU | Australien | GB | Vereinigtes Königreich | MW | Malawi |
| BB | Barbados | GE | Georgien | NE | Niger |
| BE | Belgien | GN | Guinea | NL | Niederlande |
| BF | Burkina Faso | GR | Griechenland | NO | Norwegen |
| BG | Bulgarien | HU | Ungarn | NZ | Neuseeland |
| BJ | Benin | IE | Irland | PL | Polen |
| BR | Brasilien | IT | Italien | PT | Portugal |
| BY | Belarus | JP | Japan | RO | Rumänien |
| CA | Kanada | KE | Kenya | RU | Russische Föderation |
| CF | Zentrale Afrikanische Republik | KG | Kirgisistan | SD | Sudan |
| CG | Kongo | KP | Demokratische Volksrepublik Korea | SE | Schweden |
| CH | Schweiz | KR | Republik Korea | SI | Slowenien |
| CI | Côte d'Ivoire | KZ | Kasachstan | SK | Slowakei |
| CM | Kamerun | LI | Liechtenstein | SN | Senegal |
| CN | China | LK | Sri Lanka | TD | Tschad |
| CS | Tschechoslowakei | LU | Luxemburg | TG | Togo |
| CZ | Tschechische Republik | LV | Lettland | TJ | Tadschikistan |
| DE | Deutschland | MC | Monaco | TT | Trinidad und Tobago |
| DK | Dänemark | MD | Republik Moldau | UA | Ukraine |
| ES | Spanien | MG | Madagaskar | US | Vereinigte Staaten von Amerika |
| FI | Finnland | ML | Mali | UZ | Usbekistan |
| FR | Frankreich | MN | Mongolei | VN | Vietnam |

1 **Verwendung von Pteridin-Derivaten als Hemmstoffe der
NO-Synthase**

5 Die vorliegende Erfindung betrifft Pteridin-Derivate der
allgemeinen Formel I,



15 die aufgrund ihrer Fähigkeit zur Modulation der körpereigenen Stickstoffmonoxid-Produktion wertvolle Arzneimittel zur Vorbeugung und Bekämpfung von Krankheitszuständen sind, die durch einen gestörten Stickstoffmonoxid-Spiegel gekennzeichnet sind.

20 Stickstoffmonoxid (NO) spielt in verschiedensten physiologischen Prozessen eine bedeutende Rolle (siehe z.B. R.Henning, Nachr. Chem. Tech. Lab.41 (1993), 413; H.H.H.W.Schmidt et al., Biochim. Biophys. Acta 1178 (1993), 153). Es wirkt z.B. relaxierend auf die glatte
25 Gefäßmuskulatur und ist auf diese Weise maßgeblich an der Regulierung des Blutdrucks beteiligt, es steuert über eine Hemmung der Thrombocytenaggregation die Blutgerinnung, und es ist beispielsweise im Gehirn als Neurotransmitter in den Aufbau des Langzeitgedächtnisses involviert. In den NANC-Nerven des peripheren Nervensystems
30 fungiert NO ebenfalls als Botenstoff. Die zelltoxische Wirkung des NO wird von Macrophagen für die Infektionsabwehr ausgenutzt.

35

1

Endogenes NO wird mit Hilfe mindestens drei verschiedener NO-Synthase-Isoenzyme aus Arginin gebildet (siehe z.B. J.F.Kerwin Jr. und M.Heller, Med. Res. Rev. 14 (1994), 23). Sie unterscheiden sich bezüglich ihrer Lokalisation im Organismus, ihrer Regulierbarkeit durch Ca^{2+} /Calmodulin sowie ihrer Induzierbarkeit durch Endotoxine und Cytokine. Die konstitutiven, calciumabhängigen NO-Synthasen finden sich beispielsweise in Endothel (Typ III) und im Gehirn (Typ I) und sind dort in die Regulation von Blutdruck und -gerinnung bzw. in Reizleitungsprozesse involviert. Die cytokin-induzierbare, calciumunabhängige Isoform (Typ II) tritt in Macrophagen, Glattmuskelzellen und Hepatocyten auf. Sie ist in der Lage, über einen langen Zeitraum relativ große Mengen NO zu produzieren und wird für entzündliche Prozesse und die zelltoxische Aktivität der Macrophagen verantwortlich gemacht.

Ein gestörter NO-Haushalt hat schwerwiegende Erkrankungen und Schädigungen zur Folge. So führt die exzessive Bildung von NO im septischen oder hämorrhagischen Schock zu massiven pathologischen Blutdruckabfällen. Übersteigerte NO-Produktion ist an der Entstehung von Typ-1-Diabetes und Atherosklerose beteiligt und scheint auch für die glutamatinduzierte Neurotoxizität nach cerebraler Ischämie verantwortlich zu sein. Hohe NO-Konzentrationen können darüberhinaus durch Desaminierung von Cytosin zu DNA-Schädigungen führen. Beispiele für Erkrankungen, die durch einen Mangel an endogenem NO mittelbar oder unmittelbar hervorgerufen werden, sind arterieller Bluthochdruck, Störungen der Hämostase, koronare Herzkrankheit und die erektile Dysfunktion.

Der Ansatz, eine Modulation der NO-Produktion zur Be-

35

1 handlung dieser Krankheitsbilder zu verwenden, wurde bis-
lang nur mit Hilfes von Arginin-Analoga realisiert.
(GB-A-2240041; WO-A-93/13055). Als weitere potentielle
NO-Synthase-Hemmstoffe werden in der Literatur N-Imino-
5 ethylornithin (McCall et al, Br. J. Pharmacol.102 (1991),
234), Aminoguanidin (T.P.Misko et al, Eur. J. Pharmacol.
233 (1993), 119; EP-A-547588) und 7-Nitroindazol
(P.K.Moore et al, Br.J.Pharmacol. 108 (1993), 296) disku-
tiert.

10

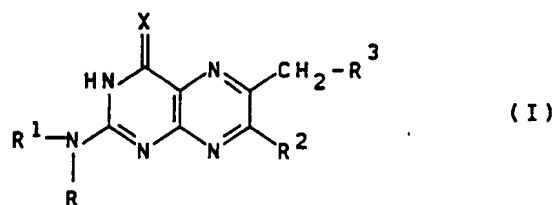
Verschiedene Pteridin-Derivate kommen in der Natur vor,
und auch Verwendungen von Pteridin-Derivaten als Pharma-
Wirkstoffe sind beschrieben. Das Zytostatikum Methotrexat
ist ein Pteridin-Derivat. In der EP-B-290819 ist die Ver-
15 wendung von Pteridinen, darunter auch solchen der allge-
meinen Formel I, in denen R³ für Hydroxy steht, für die
Behandlung kognitiver Pathologien offenbart. Für Unter-
suchungen an der NO-Synthase, die sich mit mechanisti-
schen Fragestellungen beschäftigten, wurden bislang
20 vor allem hydrierte Pteridin-Derivate verwendet (siehe
z.B. Kwon et al. (J. Biol. Chem. 264 (1989), 20496)
oder Giovanelli et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88
(1991), 7091)). Danach stimuliert Tetrahydrobiopterin die
NO-Produktion und ist ein Cofaktor der NO-Synthasen. Eine
25 Stimulation der NO-Produktion wurde auch für das 7,8-Di-
hydrobiopterin gefunden. Über eine Erhöhung der NO-Syn-
thase-Aktivität durch 6-Methyl-5,6,7,8-tetrahydropterin
berichten Hevel und Marletta (Biochemistry 31 (1992),
7160). Nicht hydrierte Pteridine, wie etwa Biopterin,
30 Pterin, Folsäure oder 6-Hydroxymethylpterin zeigten in
solchen Untersuchungen keine signifikanten Effekte (Kwon
et al., J. Biol. Chem. 264 (1989), 20496).

35

1 Überraschend wurde nun gefunden, daß Pteridin-Derivate
 der allgemeinen Formel I insbesondere hemmend die endoge-
 ne NO-Produktion modulieren und somit als Arzneimittel
 bei Krankheiten geeignet sind, die durch einen überhöhten
 5 NO-Spiegel charakterisiert sind.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung
 von Pteridin-Derivaten der allgemeinen Formel I,

10



15

in der

- X für O, NH oder N-(C₁-C₅)-Alkanoyl steht;
 R für Wasserstoff steht und
 20 R¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₅)-Alkanoyl steht oder
 R und R¹ zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie
 gebunden sind, eine Dimethylaminomethylenaminogruppe
 bilden;
 R² für Wasserstoff, Methyl, Phenyl, Hydroxy, Methoxy
 oder Amino steht;
 25 R³ für den Rest -OR⁴, -NR⁵R⁶ oder -S(O)_mR⁷, wobei m für
 die Zahlen 0, 1 oder 2 steht, steht;
 R⁴ für Wasserstoff, (C₁-C₁₀)-Alkyl, Cyclohexyl, Benzyl,
 unsubstituiertes oder durch Chlor oder den Rest
 30 -COR⁸ substituiertes Phenyl, unsubstituiertes oder am
 Stickstoff durch einen oder zwei gleiche oder ver-
 schiedene (C₁-C₄)-Alkylreste substituiertes Amino-

35

- 1 carbonylmethyl, 2-Methoxyethyl, den (2,2-Dimethyl-
1,3-dioxolan-4-yl)methyl-Rest oder den Rest $-\text{COR}^9$
steht;
- 5 R^5 für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, 2-Hydroxyethyl,
2-Chlorethyl, Benzyl, Pyridylmethyl, Phenylethyl,
Pyridylethyl oder Acetyl steht;
- 10 R^6 unabhängig von der Bedeutung von R^5 für die für R^5
angegebenen Bedeutungen steht oder, wenn R^5 für
Wasserstoff oder Methyl steht, auch für Cyclohexyl,
3-(2-Ethoxyethoxy)propyl, Benzyl, das am Phenylring
ein oder zwei Chloratome oder den Rest $-\text{COR}^{10}$ trägt,
(C_1 - C_5)-Alkanoyl, den Rest $-\text{COR}^{10}$ oder den Rest
 $-(\text{CH}_2)_4-\text{COR}^{10}$ steht;
- 15 R^7 für (C_1 - C_4)-Alkyl, Benzyl, unsubstituiertes oder
durch Chlor, den Rest $-\text{COR}^8$ oder den Rest $-\text{CO}-\text{O}-\text{CO}-$
 $-(\text{C}_1$ - C_4)-Alkyl substituiertes Phenyl oder für
Naphthyl steht;
- R^8 für Hydroxy, Methoxy, Amino oder R^{10} steht;
- 20 R^9 für (C_1 - C_4)-Alkyl, Hydroxymethyl, Trifluormethyl,
(C_1 - C_2)-Alkoxy oder R^{11} steht;
- R^{10} für den Rest
- $$\begin{array}{c} \text{COR}^{12} \\ | \\ -\text{NH}-\text{CH}-(\text{CH}_2)_2-\text{COR}^{12} \end{array} \text{ steht;}$$
- 25 R^{11} für den Rest
- $$\begin{array}{c} -\text{CH}-\text{NHR}^{14} \\ | \\ \text{R}^{13} \end{array} \text{ steht;}$$
- 30 R^{12} für Hydroxy oder (C_1 - C_2)-Alkoxy steht;
 R^{13} für (C_1 - C_4)-Alkyl oder Benzyl steht;
 R^{14} für Wasserstoff oder Benzyloxycarbonyl steht;
und ihrer tautomeren Formen sowie ihrer pharmakologisch

- 1 verträglichen Salze zur Vorbeugung und Behandlung von
Krankheiten, die durch einen erhöhten Stickstoffmonoxid-
Spiegel bedingt sind.
- 5 Alkylgruppen können geradkettig oder verzweigt sein. Dies
gilt auch, wenn sie in anderen Gruppen, beispielsweise in
Alkoxy-, Alkylmercapto-, Alkoxy-carbonyl- oder Alkanoyl-
gruppen auftreten. Beispiele für Alkylgruppen, die in den
erfindungsgemäß zu verwendenden Verbindungen der allge-
10 meinen Formel als solche, also als (C₁-C₄)- oder
(C₁-C₁₀)-Alkyl, oder in anderen Gruppen auftreten können,
sind Methyl, Ethyl, n-Propyl, i-Propyl-, n-Butyl, i-Bu-
tyl, sek-Butyl, tert-Butyl, n-Pentyl, 3-Methylbutyl,
2,2-Dimethylpropyl, n-Hexyl, n-Heptyl, n-Octyl, n-Nonyl
15 oder n-Decyl. Beispiele speziell für (C₁-C₅)-Alkanoyl
sind Formyl, Acetyl, Propionyl, n-Butyryl, i-Butyryl, n-
Valeroyl, 3-Methyl-n-butyryl oder 2,2-Dimethylpropionyl,
Beispiele für (C₁-C₂)-Alkoxy sind Methoxy und Ethoxy.
- 20 Ein Pyridylrest kann ein 2-Pyridyl-, 3-Pyridyl- oder 4-
Pyridylrest sein, bevorzugt ist er ein 2-Pyridylrest. Ein
Phenylrest, der einen Substituenten trägt, kann diesen in
der 2-, der 3- oder der 4-Position tragen. Bevorzugt sind
die 3- und die 4-Position, besonders bevorzugt ist die
25 4-Position. Trägt der Phenylrest zwei Substituenten, so
können diese beispielsweise 2,3-, 2,4-, 3,4- oder 3,5-
ständig sein. Bevorzugt sind sie 2,4- oder 3,4-ständig.
Ein Naphthylrest kann ein 1-Naphthyl- oder 2-Naphthylrest
sein, bevorzugt ist ein 2-Naphthylrest. In Phenylethyl-
und Pyridylethylresten kann der Phenyl- bzw. Pyridylrest
30 1-ständig oder 2-ständig sein, bevorzugt ist er 2-stän-
dig.
- 35 Die Verbindungen der allgemeinen Formel I können in ver-
schiedenen tautomeren Formen und in verschiedenen stereo-

1 isomeren Formen vorliegen. Die vorliegende Erfindung
umfaßt nicht nur die Verwendung aller tautomeren Formen,
sondern auch die aller stereoisomeren Formen, also z.B.
die von reinen Enantiomeren, von Enantiomeregemischen
5 und Racematen, von reinen Diastereomeren und Diastereo-
merengemischen.

X steht bevorzugt für O oder NH.

10 Bevorzugt steht R für Wasserstoff:

R^1 steht bevorzugt für Wasserstoff.

R^2 steht bevorzugt für Wasserstoff. Steht R^2 für (C_1-C_5) -
15 Alkanoyl, so sind Acetyl, i-Butyryl und Pivaloyl bevor-
zugt.

R^3 steht bevorzugt für (C_1-C_{10}) -Alkyloxy, Phenyloxy,
Amino, Methylamino, Dimethylamino oder für den Rest
20 $-COR^{11}$. Besonders bevorzugt steht R^3 für (C_5-C_{10}) -Alkyl-
oxy, Amino oder den Rest $-COR^{11}$, wobei das in R^{11} ent-
haltene R^{14} für Benzylloxycarbonyl steht und das in R^{11}
enthaltene R^{13} für Methyl, Isopropyl oder Benzyl steht.

25 Die Verbindungen der allgemeinen Formel I sind bekannt
und können nach oder analog zu bekannten Verfahren her-
gestellt werden. Synthesemethoden für Pteridin-Derivate
der allgemeinen Formel I sind z.B. die Methode von
Gabriel-Isay oder die Taylor-Methode (siehe z.B.
30 D.J.Brown, Fused Pyrimidines III, Pteridines (E.C. Taylor
und A. Weissberger (Ed.), Wiley & Sons, New York)). Im
einzelnen ist die Herstellung von Verbindungen der allge-
meinen Formel I z.B. beschrieben in der EP-A-108 890, in
der Dissertationsschrift von Hermann Michael Traub
35 (Dissertation der Universität Konstanz, Deutschland

1 (1987)), oder in J. Med. Chem. 30 (1987), 40.

Die erfindungsgemäß zu verwendenden Verbindungen der
allgemeinen Formel I können mit anorganischen oder orga-
5 nischen Säuren Salze bilden. Geeignete Säuren für die
Bildung pharmakologisch annehmbarer Säureadditionssalze
sind beispielsweise: Chlorwasserstoff, Bromwasserstoff,
Naphthalindisulfonsäuren, insbesondere Naphthalindisul-
fonsäure(1,5), Phosphor-, Salpeter-, Schwefel-, Oxal-,
10 Milch-, Wein-, Essig-, Salicyl-, Benzoe-, Ameisen-, Pro-
pion-, Pivalin-, Diethylelessig-, Malon-, Bernstein-,
Pimelin-, Fumar-, Malein-, Apfel-, Sulfamin-, Phenylpro-
pion-, Glucon-, Ascorbin-, Isonicotin-, Methansulfon-,
p-Toluolsulfon-, Zitronen- oder Adipinsäure. Die Verbin-
15 dungen der allgemeinen Formel I können ein oder mehrere
Säureäquivalente addieren. Die Säureadditionssalze können
wie üblich durch Vereinigung der Komponenten, zweckmäßi-
gerweise in einem geeigneten Lösungs- oder Verdünnungs-
mittel, hergestellt werden. Durch Anionenaustausch können
20 Säureadditionssalze ineinander überführt werden. Verbin-
dungen der allgemeinen Formel I, die saure Gruppen ent-
halten, können mit anorganischen oder organischen Basen
Salze bilden. Beispielsweise für solche Salze sind z.B.
Alkalimetallsalze, insbesondere Natrium- und Kaliumsalze,
25 oder Ammoniumsalze, insbesondere solche mit organischen
Resten am Ammoniumstickstoff.

Die Hemmung der NO-Freisetzung durch die Erfindungen der
allgemeinen Formel I kann durch einen Aktivitätsassay
30 bestimmt werden, der auf Arbeiten von Bredt und Snyder
sowie Schmidt et al. basiert (s. D.S.Bredt und S.S.
Snyder, Isolation of nitric oxide synthase, a calmodu-
lin-requiring enzyme, Proc.Natl.Acad.Sci. USA 87 (1990),
682; H.H.H.W.Schmidt et al., Purification of a soluble
35 isoform of guanylyl cyclase-activating factor synthase,

1 Proc. Natl.Acad.Sci. USA 88 (1991), 365). Hierbei wird
für gereinigte NO-Synthase (NOS) das bei der NO-Bildung
anfallende Coprodukt L-Citrullin quantitativ erfaßt. Dies
geschieht durch den Einsatz von ³H-radiomarkiertem
5 L-Arginin als Substrat der Enzymreaktion, das zu ³H-L-
Citrullin und NO umgesetzt wird. Nach Beendigung der
Enzyminkubation wird entstandenes L-Citrullin von unver-
brauchtem L-Arginin mittels Ionenaustauschchromatographie
aus dem Reaktionsgemisch entfernt; die durch Flüssig-
10 keitsszintillationsmessung ermittelte ³H-Aktivität ent-
spricht dann der Menge an L-Citrullin. Einzelheiten der
Durchführung sind weiter unten angegeben.

Krankheiten, die durch einen erhöhten NO-Spiegel ent-
15 stehen und die somit erfindungsgemäß mit den Verbindungen
der allgemeinen Formel I behandelt werden können bzw.
denen mit diesen vorgebeugt werden kann, sind insbeson-
dere pathologische Blutdruckabfälle, wie sie beim septi-
schen oder hämorrhagischen Schock, bei der Tumor- bzw.
20 Krebstherapie mit Cytokinen oder bei der Leberzirrhose
auftreten. Des weiteren entzündliche Erkrankungen, wie
rheumatoide Arthritis und insbesondere Colitis ulcerosa,
sowie Insulin-abhängiger Diabetes mellitus und Transplan-
tat-Abstoßungsreaktionen.

25 Aber auch die folgenden Erkrankungen stehen im Zusammen-
hang mit einer gesteigerten Produktion von Stickstoff-
monoxid und können erfindungsgemäß behandelt bzw. vorge-
beugt werden. Im Bereich Herz-Kreislauf sind dies Arte-
riosklerose, postischämische Gewebeschäden und Infarkt-
30 schäden, Reperfusionsschäden, Myokarditis auf der Grund-
lage einer Coxsackie-Virus-Infektion und Kardiomyopathie;
im Bereich Nervensystem/Zentrales Nervensystem Neuritiden
unterschiedlicher Ätiogenese (Neuritisformen), Enzepha-
lomyelitiden, virale neurodegenerative Erkrankungen,
35 Morbus Alzheimer, Hyperalgesie, Epilepsie und Migräne,

1 wobei die Behandlung bzw. Vorbeugung des Morbus Alzheimer
ausgenommen ist, wenn R³ in der allgemeinen Formel I für
Hydroxy steht; im Bereich Niere akutes Nierenversagen
sowie Nephritiden unterschiedlicher Ätiogenese, speziell
5 Glomerulonephritis.

Außerdem sind auch Behandlungen im Bereich des Magens und
des Uterus/der Plazenta sowie eine Beeinflussung der
Motilität der Spermien Anwendungsgebiete für die Verbin-
10 dungen der allgemeinen Formel I.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I und ihre phar-
makologisch annehmbaren Salze können als Hilfsstoffe in
biochemischen und pharmakologischen Untersuchungen in der
15 Forschung und in Diagnoseverfahren eingesetzt werden, und
sie können am Tier, bevorzugt am Säugetier, und insbeson-
dere am Menschen als Heilmittel für sich allein, in Mi-
schungen untereinander oder in Form von pharmazeutischen
Zubereitungen verabreicht werden, die eine enterale oder
20 parenterale Anwendung gestatten und die als aktiven Be-
standteil eine wirksame Dosis mindestens einer Verbindung
der allgemeinen Formel I oder eines Salzes davon, neben
üblichen pharmazeutisch einwandfreien Träger- und Zusatz-
stoffen, enthalten.

25 Die Heilmittel können oral, z.B. in Form von Pillen, Tab-
letten, Lacktabletten, Dragees, Hart- und Weichgelatine-
kapseln, Lösungen, Sirupen, Emulsionen oder Suspensionen
oder Aerosolmischungen verabreicht werden. Die Verabrei-
30 chung kann aber auch rektal, z.B. in Form von Supposito-
rien, oder parenteral, z.B. in Form von Injektionslösun-
gen oder Infusionslösungen, oder perkutan, z.B. in Form
von Salben oder Tinkturen, erfolgen.

35 Die pharmazeutischen Präparate können neben den Wirk- und

1 Trägerstoffen noch Zusatzstoffe, wie z.B. Füllstoffe,
Streck-, Spreng-, Binde-, Gleit-, Netz-, Stabilisie-
rungs-, Emulgier-, Konservierungs-, Süß-, Färbe-, Ge-
schmacks- oder Aromatisierungs-Mittel, Puffersubstanzen,
5 ferner Lösungsmittel oder Lösungsvermittler oder Mittel
zur Erzielung eines Depoteffekts, sowie Salze zur Ver-
änderung des osmotischen Drucks, Überzugsmittel oder
Antioxidantien enthalten. Sie können auch zwei oder meh-
rere Verbindungen der allgemeinen Formel I oder ihrer
10 pharmakologisch annehmbaren Salze und noch andere thera-
peutisch wirksame Stoffe enthalten.

Derartige andere therapeutisch wirksame Substanzen sind
beispielsweise: β -Rezeptorenblocker, wie z.B. Propran-
15 nolol, Pindolol, Metoprolol; Vasodilatoren, wie z.B.
Carbocromen; Beruhigungsmittel, wie z.B. Barbitursäure-
derivate, 1,4-Benzodiazepine und Meprobamat; Diuretica,
wie z.B. Chlorothiazid; das Herz tonisierende Mittel, wie
z.B. Digitalispräparate; blutdrucksenkende Mittel, wie
20 z.B. Hydralazin, Dihydralazin, Ramipril, Prazosin, Cloni-
din, Rauwolfia-Alkaloide; Mittel, die den Fettsäurespie-
gel im Blut senken, wie z.B. Bezafibrat, Fenofibrat;
Mittel für die Thromboseprophylaxe, wie z.B. Phenprocou-
mon; entzündungshemmende Substanzen, wie etwa Cortico-
25 steroide, Salicylate oder Propionsäurederivate, wie bei-
spielsweise Ibuprofen; Antibiotika, wie z.B. Penicilline
oder Cephalosporine; NO-Donoren, wie z.B. organische
Nitrate, Sydnonimine oder Furoxane.

30 Die Dosierung kann innerhalb weiter Grenzen variieren und
ist in jedem einzelnen Fall den individuellen Gegebenhei-
ten anzupassen. Im allgemeinen ist bei oraler Verabrei-
chung pro menschlichem Individuum eine Tagesdosis von
etwa 0,5 bis 100 mg, vorzugsweise 1 bis 20 mg, angemes-
35 sen. Auch bei anderen Applikationsformen liegt die Tages-

1 dosis, in ähnlichen Mengenbereichen, d.h. im allgemeinen
ebenfalls bei 0,5 bis 100 mg/Mensch. Die Tagesdosis kann
in mehrere, z.B. 2 bis 4, Teilverabreichungen aufgeteilt
werden.

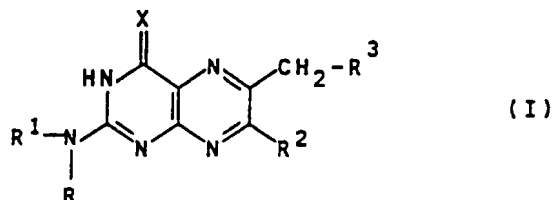
5

Zur Herstellung der pharmazeutischen Präparate können
pharmazeutisch inerte anorganische oder organische Trä-
gerstoffe verwendet werden. Für die Herstellung von Pil-
len, Tabletten, Dragees und Hartgelatine kapseln kann man
10 z.B. Lactose, Maisstärke oder Derivate davon, Talk, Stea-
rinsäure oder deren Salze etc. verwenden. Trägerstoffe
für Weichgelatine kapseln und Suppositorien sind z.B. Fet-
te, Wachse, halb feste und flüssige Polyole, natürliche
oder gehärtete Öle etc. Als Trägerstoffe für die Herstel-
15 lung von Lösungen und Sirupen eignen sich z.B. Wasser,
Saccharose, Invertzucker, Glukose, Polyole etc. Als Trä-
gerstoffe für die Herstellung von Injektionslösungen eig-
nen sich z.B. Wasser, Alkohole, Glyzerin, Polyole oder
pflanzliche Öle.

20

Für verschiedene Pteridin-Derivate der allgemeinen Formel
I sind bisher keine pharmakologischen Wirkungen oder
medizinischen Verwendungen bekannt gewesen. Für solche
Verbindungen gibt die vorliegende Erfindung die erste
25 medizinische Indikation an. Gegenstand der vorliegenden
Erfindung sind auch Pteridin-Derivate der allgemeinen
Formel I,

30



35

in der

- 1
- X für O, NH oder N-(C₁-C₅)-Alkanoyl steht;
- R für Wasserstoff steht und
- 5 R¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₅)-Alkanoyl steht oder
R und R¹ zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie
gebunden sind, eine Dimethylaminomethylenaminogruppe
bilden;
- R² für Wasserstoff, Methyl, Phenyl, Hydroxy, Methoxy
oder Amino steht;
- 10 R³ für den Rest -OR⁴, -NR⁵R⁶ oder -S(O)_mR⁷, wobei m für
die Zahlen 0, 1 oder 2 steht, steht;
- R⁴ für Wasserstoff, (C₁-C₁₀)-Alkyl, Cyclohexyl, Benzyl,
unsubstituiertes oder durch Chlor oder den Rest -COR⁸
substituiertes Phenyl, unsubstituiertes oder am
15 Stickstoff durch einen oder zwei gleiche oder ver-
schiedene (C₁-C₄)-Alkylreste substituiertes Amino-
carbonylmethyl, 2-Methoxyethyl, den (2,2-Dimethyl-
1,3-dioxolan-4-yl)methyl-Rest oder den Rest -COR⁹
steht;
- 20 R⁵ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, 2-Hydroxyethyl,
2-Chlorethyl, Benzyl, Pyridylmethyl, Phenylethyl,
Pyridylethyl oder Acetyl steht;
- R⁶ unabhängig von der Bedeutung von R⁵ für die für R⁵
angegebenen Bedeutungen steht oder, wenn R⁵ für
25 Wasserstoff oder Methyl steht, auch für Cyclohexyl,
3-(2-Ethoxyethoxy)propyl, Benzyl, das am Phenylring
ein oder zwei Chloratome oder den Rest -COR¹⁰ trägt,
(C₁-C₅)-Alkanoyl, den Rest -COR¹⁰ oder den Rest
-(CH₂)₄-COR¹⁰ steht;
- 30 R⁷ für (C₁-C₄)-Alkyl, Benzyl, unsubstituiertes oder
durch Chlor, den Rest -COR⁸ oder den Rest
-CO-O-CO-(C₁-C₄)-Alkyl substituiertes Phenyl oder für
Naphthyl steht;
- R⁸ für Hydroxy, Methoxy, Amino oder R¹⁰ steht;
- 35 R⁹ für (C₁-C₄)-Alkyl, Hydroxymethyl, Trifluormethyl,

1 (C₁-C₂)-Alkoxy oder R¹¹ steht;
 R¹⁰ für den Rest

5
$$\begin{array}{c} \text{COR}^{12} \\ | \\ \text{-NH-CH-(CH}_2\text{)}_2\text{-COR}^{12} \end{array}$$
 steht;

R¹¹ für den Rest

10
$$\begin{array}{c} \text{-CH-NHR}^{14} \\ | \\ \text{R}^{13} \end{array}$$
 steht;

R¹² für Hydroxy oder (C₁-C₂)-Alkoxy steht;

R¹³ für (C₁-C₄)-Alkyl oder Benzyl steht;

R¹⁴ für Wasserstoff oder Benzyloxycarbonyl steht;

15 und ihrer tautomeren Formen sowie ihrer pharmakologisch
 verträglichen Salze, wobei aber Verbindungen der allge-
 meinen Formel I, in der R³ für Hydroxy steht, ausge-
 schlossen sind, als pharmakologische Wirkstoffe. Für
 bevorzugte solche Pteridin-Derivate gilt das oben Gesagte
 entsprechend.

20

Die folgenden Beispiele geben Verbindungen der allgemei-
 nen Formel I an, die erfindungsgemäß eingesetzt werden
 können. In den Beispielen werden folgende Abkürzungen
 verwendet:

25

Me = Methyl

Et = Ethyl

iPr = Isopropyl

iBu = Isobutyl

30

tBu = tert-Butyl

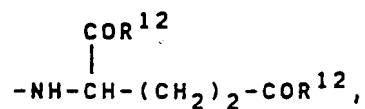
Ph = Phenyl

Py = 2-Pyridyl

Z = Benzyloxycarbonyl

35

- 1 Ph-4-COOH, Ph-4-Cl und entsprechende Angaben bedeuten
einen Phenylrest, der in der 4-Position durch den Rest
-COOH bzw. durch Chlor bzw. durch die im jeweiligen
Beispiel angegebene Gruppe substituiert ist. R^{10a}, R^{10b}
5 und R^{10c} stehen für den Rest der Formel



- 10 wobei im Fall R^{10a} der Rest R¹² für Hydroxy, im Fall R^{10b}
der Rest R¹² für Ethoxy und im Fall R^{10c} der Rest R¹² für
Methoxy steht.

- 15 R^a steht für den (2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl-
Rest (D-Form).

In den Beispielen Nr. 1 bis 109 steht R in der allgemei-
nen Formel I für Wasserstoff.

20

25

30

35

| | Nr. | X | R ¹ | R ² | R ³ |
|----|-----|---|----------------|----------------|--|
| 1 | 1 | O | H | H | OH |
| 5 | 2 | O | tBuCO | H | OH |
| | 3 | O | H | OH | OMe |
| | 4 | O | H | H | OH |
| | 5 | O | H | H | OEt |
| | 6 | O | H | H | OiPr |
| 10 | 7 | O | H | H | OiBu |
| | 8 | O | H | H | OtBu |
| | 9 | O | H | H | OPh |
| | 10 | O | H | H | O-(Ph-4-COOH) |
| | 11 | O | H | H | O-(Ph-4-COOMe) |
| 15 | 12 | O | H | H | O-(Ph-4-COR ^{10a}) |
| | 13 | O | H | H | O-n-Octyl |
| | 14 | O | H | H | O-n-Decyl |
| | 15 | O | H | H | OCH ₂ CH ₂ OMe |
| | 16 | O | H | H | OCOMe |
| 20 | 17 | O | MeCO | H | OCOMe |
| | 18 | O | H | H | OCOtBu |
| | 19 | O | tBuCO | H | OCOtBu |
| | 20 | O | H | H | OCOCH ₂ OH |
| | 21 | O | H | H | OCOCH(Me)-NHZ |
| 25 | 22 | O | H | H | OCOCH(iPr)-NHZ |
| | 23 | O | H | H | OCOCH(CH ₂ Ph)-NHZ |
| | 24 | O | H | H | OCOCF ₃ |
| | 25 | O | H | H | OCOOEt |
| | 27 | O | H | H | NHMe |
| 30 | 28 | O | H | H | NMe ₂ |
| | 29 | O | H | H | NH-CH ₂ -(Ph-4-COR ^{10a}) |
| | 30 | O | H | H | NH-CH ₂ -(Ph-4-COR ^{10b}) |

| 1 | Nr. | X | R ¹ | R ² | R ³ |
|----|-----|----|----------------|----------------|---|
| | 31 | O | tBuCO | H | N(Me)-CH ₂ CH ₂ -Py |
| 5 | 32 | O | tBuCO | H | N(CH ₂ CH ₂ -Py) ₂ |
| | 33 | O | tBuCO | H | N(CH ₂ -Py) ₂ |
| | 34 | O | H | H | N(CH ₂ CH ₂ -OH) ₂ |
| | 35 | O | H | H | N(CH ₂ CH ₂ -Cl) ₂ |
| | 36 | O | H | H | NH-COR ^{10a} |
| 10 | 37 | O | H | H | SMe |
| | 38 | O | H | H | SEt |
| | 39 | O | H | H | S-n-Propyl |
| | 49 | O | H | H | S-n-Butyl |
| | 41 | O | H | H | S-(Ph-4-CO-O-COiBu) |
| 15 | 42 | O | H | H | S-(Ph-4-COOH) |
| | 43 | O | H | H | S-(Ph-4-COOMe) |
| | 44 | O | H | H | S-(Ph-4-COR ^{10a}) |
| | 45 | O | H | H | S-(Ph-4-COR ^{10b}) |
| | 46 | O | H | H | S(O) ₂ Me |
| 20 | 47 | O | tBuCO | H | S(O) ₂ Me |
| | 48 | NH | H | H | OH |
| | 49 | NH | H | Me | OH |
| | 50 | NH | H | OMe | OH |
| | 51 | NH | H | OH | OH |
| 25 | 52 | NH | H | H | OMe |
| | 53 | NH | H | H | OEt |
| | 54 | NH | H | H | O-n-Propyl |
| | 55 | NH | H | H | OiPr |
| | 56 | NH | H | H | O-n-Butyl |
| 30 | 57 | NH | H | H | OiBu |
| | 58 | NH | H | H | OtBu |
| | 59 | NH | H | H | O-n-Octyl |
| | 60 | NH | H | H | O-n-Decyl |

| 1 | Nr. | X | R ¹ | R ² | R ³ |
|----|-----|----|----------------|-----------------|--|
| | 61 | NH | H | H | OCH ₂ CH ₂ OMe |
| 5 | 62 | NH | H | H | O-Cyclohexyl |
| | 63 | NH | H | H | O-CH ₂ Ph |
| | 64 | NH | H | H | OPh |
| | 65 | NH | H | H | O-(Ph-4-Cl) |
| | 66 | NH | H | H | O-(Ph-4-COOH) |
| 10 | 67 | NH | H | H | O-(Ph-4-CONH ₂) |
| | 68 | NH | H | H | O-(Ph-4-COR ^{10a}) |
| | 69 | NH | H | H | O-(Ph-4-COR ^{10b}) |
| | 70 | NH | H | H | O-R ^a |
| | 71 | NH | H | H | OCOMe |
| 15 | 72 | NH | COMe | H | OCOMe |
| | 73 | NH | H | H | OCOCH ₂ OH |
| | 74 | NH | H | H | OCOCH(Me)-NHZ |
| | 75 | NH | H | H | OCH ₂ CONEt ₂ |
| | 76 | NH | H | H | NH ₂ |
| 20 | 77 | NH | H | H | NHMe |
| | 78 | NH | H | H | NMe ₂ |
| | 79 | NH | H | NH ₂ | NMe ₂ |
| | 80 | NH | H | H | NEt ₂ |
| | 81 | NH | H | H | NH-CH ₂ CH ₂ Ph |
| 25 | 82 | NH | H | H | NH-CH ₂ (Ph-4-COR ^{10a}) |
| | 83 | NH | H | H | NH-CH ₂ (Ph-4-COR ^{10b}) |
| | 84 | NH | H | H | N(Me)-(CH ₂) ₄ -COR ^{10a} |
| | 85 | NH | H | H | N(Me)-(CH ₂) ₄ -COR ^{10b} |
| | 86 | NH | H | H | N(Me)-(CH ₂) ₄ -COR ^{10c} |
| 30 | 87 | NH | H | H | NH-CH ₂ -(2,4-Dichlorphenyl) |
| | 88 | NH | H | H | NH-CH ₂ -(3,4-Dichlorphenyl) |
| | 89 | NH | H | H | NH-(CH ₂) ₃ -O-(CH ₂) ₂ -OEt |
| | 90 | NH | H | H | NH-Cyclohexyl |

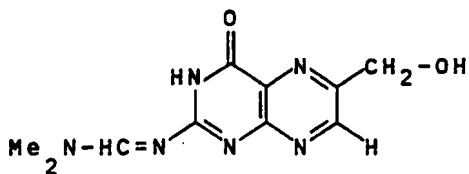
1

| Nr. | X | R ¹ | R ² | R ³ | |
|-----|-----|-----------------|----------------|----------------|---|
| 5 | 91 | NH | H | H | N(CH ₂ CH ₂ -OH) ₂ |
| | 92 | NH | H | H | N(CH ₂ CH ₂ -Cl) ₂ |
| | 93 | NH | H | H | NH-CO <i>i</i> Pr |
| | 94 | NH | H | H | SMe |
| | 95 | NH | H | H | SCH ₂ Ph |
| 10 | 96 | NH | H | H | SPh |
| | 97 | NH | H | H | S-(Ph-4-COOH) |
| | 98 | NH | H | H | S-(Ph-4-COOMe) |
| | 99 | NH | H | H | S-(Ph-4-COOEt) |
| | 100 | NH | H | H | S-(Ph-4-Cl) |
| 15 | 101 | NH | H | H | S(O)-(Ph-4-Cl) |
| | 102 | NH | H | H | S(O) ₂ -(Ph-4-Cl) |
| | 103 | NH | H | H | S-(Ph-4-CO-O-CO <i>i</i> Bu) |
| | 104 | NH | H | H | S-(Ph-4-COR ^{10a}) |
| | 105 | NH | H | H | S-(Ph-4-COR ^{10b}) |
| 20 | 106 | NH | H | H | S-(2-Naphthyl) |
| | 107 | NCOMe | MeCO | H | CCOMe |
| | 108 | NCOMe | MeCO | H | N(COMe) ₂ |
| | 109 | NCO <i>i</i> Pr | <i>i</i> PrCO | H | NH-CO <i>i</i> Pr |

25 Beispiel 110

Verbindung der Formel

30



35

1

Messung der Hemmung der Aktivität gereinigter Stickstoffmonoxid-Synthase (NOS)

5 Bei diesem Aktivitätsassay wird das bei der Bildung von NO durch gereinigte NOS anfallende Koproduct L-Citrullin quantitativ erfaßt. Als Substrat der Enzymreaktion wird ³H-radiomarkiertes L-Arginin eingesetzt, das zu ³H-L-Citrullin und NO umgesetzt wird. Nach Beendigung der

10 Enzyminkubation wird entstandenes L-Citrullin von unverbrauchtem L-Arginin mittels Ionenaustauschchromatographie aus dem Reaktionsgemisch entfernt; die durch Flüssigkeitsszintillation gemessene ³H-Aktivität entspricht dann der Menge an L-Citrullin, die ein direktes Maß für die

15 Aktivität der NOS ist.

Das Grundmedium für die Durchführung der Enzymreaktion ist TE-Puffer (Triethanolamin, EDTA, pH 7,0). Das Endvolumen jeder Inkubation beträgt 100 µl. Das Reaktions-

20 gemisch wird erhalten, indem die folgenden 6 Komponenten auf Eis gemischt werden:

1. "REA-Mix" (pH 7,0), der Triethanolamin, Calciumchlorid, Magnesiumchlorid, EDTA, L-Arginin, Calmodulin und
- 25 Flavin-Adenin-Dinukleotid (FAD) enthält;
2. frisch zubereitete Stammlösung von β-Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat, reduzierte Form (NADPH);
3. (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-Biopterin-Dihydrochlorid-Stammlösung (BH₄) oder - für Versuche ohne BH₄ - stattdessen TE-Puffer;
- 30 4. gereinigte NO-Synthase aus Schweinekleinhirn oder aus Schweineleber;
5. L-[2,3,4,5-³H]-Arginin-Hydrochlorid-Stammlösung (1,5-2,6 TBq/mmol);
- 35 6. zu testende Substanz.

1 Die finalen Konzentrationen der Komponenten im Inkuba-
tionsvolumen von 100 μ l sind:
Triethanolamin 50 mM, EDTA 0,5 mM, CaCl_2 226 μ M, MgCl_2
5 477 μ M, L-Arginin 50 μ M, Calmodulin 0,5 μ M, FAD 5 μ M,
NADPH 1 mM, BH_4 (wenn zugesetzt) 2 μ M, zu testende
Substanz 100 μ M. Nach dem Mischen der Komponenten auf Eis
wird der Reaktionsansatz sofort in einem Wasserbad bei
37°C für 15 Minuten inkubiert. Nach dieser Inkubations-
10 zeit wird die Reaktion durch Zugabe von 900 μ l eiskaltem
"Stoppuffer" (20 mM Natriumacetat, 2 mM EDTA, pH 5,5)
abgestoppt und der Ansatz (Gesamtvolumen jetzt 1,0 ml)
auf Eis gestellt. Zur Abtrennung des nicht umgesetzten
 ^3H -L-Arginins wird das Gemisch auf eine Ionenaustauscher-
15 säule mit 0,8 ml Dowex AG 50 WX-8 (100-200 mesh) gegeben,
die zuvor mit 2 ml Stoppuffer gespült und äquilibriert
wurde. Nach dem Auftragen der Probe wird die Säule zwei-
mal mit je 1 ml Wasser eluiert. Der Durchlauf der Probe
und das Eluat werden in Szintillationsgefäßen aufgefangen
20 und gereinigt (Gesamtvolumen 3 ml). Zu den 3 ml wäßriger
Meßlösung werden 9 ml Szintillator-Lösung gegeben und die
homogene Mischung wird in einem Flüssigszintillations-
zähler Tricarb 2500 TR (Packard) 1 Minute pro Probe ge-
25 messen. Die mit der zu testenden Substanz gefundene Akti-
vität wird in Prozent der Aktivität der Kontrolle angege-
ben. Jede Substanz wird in einer Konzentration von 100 μ M
in Anwesenheit von 2 μ M Tetrahydrobiopterin auf antago-
nistische Wirkung sowie in Abwesenheit von Tetrahydrobio-
pterin auf agonistische Wirkung auf die NOS getestet.
30 Alle Inkubationen werden in Triplikaten angesetzt. Jeder
Versuch wird dreimal mit verschiedenen Enzympräparationen
wiederholt. Einige Ergebnisse sind in der folgenden
Tabelle angegeben.

| 1 | Verbindung des Beispiels | Enzym aus | Citrullin-Bildung (% der Kontrolle) |
|----|-----------------------------|---------------|--|
| | 1 | Schweinehirn | 61,7 |
| 5 | 21 | Schweinehirn | 60,8 |
| | 23 | Schweinehirn | 2,5 |
| | 37 | Schweinehirn | 22,9 |
| | 60 | Schweinehirn | 26,2 |
| | 76 | Schweineleber | 22,4 |
| 10 | | | |

Beispiel A

Gelatineweichkapseln, enthaltend 100 mg Wirkstoff pro Kapsel:

| | | |
|----|---|-------------------|
| 15 | | pro Kapsel |
| | Wirkstoff | 100 mg |
| | aus Kokosfett fraktioniertes Triclycerid-Gemisch | 400 mg |
| | Kapselinhalt | 500 mg |

20

Beispiel B

Injektionslösung, enthaltend 2,0 mg Wirkstoff pro ml:

| | | |
|----|-----------------------------|---------------|
| | | pro ml |
| | Wirkstoff | 2,0 mg |
| | Polyethylenglycol 400 | 5,0 mg |
| 25 | Natriumchlorid | 2,7 mg |
| | Wasser zu Injektionszwecken | ad 1 ml |

30

35

1

Beispiel C

Emulsion, enthaltend 60 mg Wirkstoff pro 5 ml:

| | pro 100 ml Emulsion |
|------------------------------------|----------------------------|
| 5 Wirkstoff | 1,2 g |
| Neutralöl | q.s. |
| Natriumcarboxymethylcellulose | 0,6 g |
| Polyoxyethylen-stearat | q.s. |
| Glycerin rein | 0,2 bis 2,0 g |
| 10 Geschmacksstoff | q.s. |
| Wasser (entsalzt oder destilliert) | ad 100 ml |

Beispiel D

Rektale Arzneiform, enthaltend 40 mg Wirkstoff pro

15 Suppositorium:

| | pro Suppositorium |
|-------------------------|--------------------------|
| Wirkstoff | 40 mg |
| Suppositoriengrundmasse | ad 2 g |

20 **Beispiel E**

Tabletten, enthaltend 40 mg Wirkstoff pro Tablette:

| | pro Tablette |
|------------------|---------------------|
| Wirkstoff | 40 mg |
| Lactose | 600 mg |
| 25 Maisstärke | 300 mg |
| lösliche Stärke | 20 mg |
| Magnesiumstearat | 40 mg |
| | <hr/> |
| | 1000 mg |

30

35

1

Beispiel F

Dragees, enthaltend 50 mg Wirkstoff pro Dragee:

| | pro Dragee |
|----|-----------------------------|
| 5 | Wirkstoff 50 mg |
| | Maisstärke 100 mg |
| | Lactose 60 mg |
| | sec. Calciumphosphat 30 mg |
| | lösliche Stärke 5 mg |
| 10 | Magnesiumstearat 10 mg |
| | kolloidale Kieselsäure 5 mg |
| | 260 mg |

15 **Beispiel G**

Für die Herstellung des Inhalts von Hartgelatine kapseln eignen sich die folgenden Rezepturen:

| | |
|----|---------------------|
| | a) Wirkstoff 100 mg |
| | Maisstärke 300 mg |
| | 400 mg |
| 20 | b) Wirkstoff 140 mg |
| | Milchzucker 180 mg |
| | Maisstärke 180 mg |
| | 500 mg |

25

Beispiel H

Tropfen können nach folgender Rezeptur hergestellt werden (100 mg Wirkstoff in 1 ml = 20 Tropfen):

| | |
|----|-------------------------------------|
| | Wirkstoff 10 g |
| 30 | Benzoessäuremethylester 0,07 g |
| | Benzoessäureethylester 0,03 g |
| | Ethanol 96 %ig 5 ml |
| | entmineralisiertes Wasser ad 100 ml |

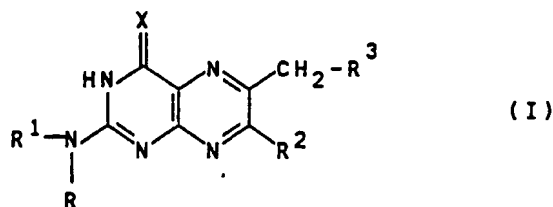
35

1

P A T E N T A N S P R Ü C H E

1. Verwendung von Pteridin-Derivaten der allgemeinen Formel I,

5



10

in der

- X für O, NH oder N-(C₁-C₅)-Alkanoyl steht;
- R für Wasserstoff steht und
- 15 R¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₅)-Alkanoyl steht oder R und R¹ zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie gebunden sind, eine Dimethylaminomethylenaminogruppe bilden;
- 20 R² für Wasserstoff, Methyl, Phenyl, Hydroxy, Methoxy oder Amino steht;
- R³ für den Rest -OR⁴, -NR⁵R⁶ oder -S(O)_mR⁷, wobei m für die Zahlen 0, 1 oder 2 steht, steht;
- 25 R⁴ für Wasserstoff, (C₁-C₁₀)-Alkyl, Cyclohexyl, Benzyl, unsubstituiertes oder durch Chlor oder den Rest -COR⁸ substituiertes Phenyl, unsubstituiertes oder am Stickstoff durch einen oder zwei gleiche oder verschiedene (C₁-C₄)-Alkylreste substituiertes Amino-
- 30 carbonylmethyl, 2-Methoxyethyl, den (2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methyl-Rest oder den Rest -COR⁹ steht;
- R⁵ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, 2-Hydroxyethyl,

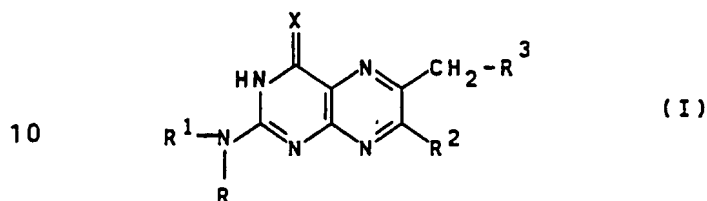
35

- 1 2-Chlorethyl, Benzyl, Pyridylmethyl, Phenylethyl,
Pyridylethyl oder Acetyl steht;
- R⁶ unabhängig von der Bedeutung von R⁵ für die für R⁵
angegebenen Bedeutungen steht oder, wenn R⁵ für
5 Wasserstoff oder Methyl steht, auch für Cyclohexyl,
3-(2-Ethoxyethoxy)propyl, Benzyl, das am Phenylring
ein oder zwei Chloratome oder den Rest -COR¹⁰ trägt,
(C₁-C₅)-Alkanoyl, den Rest -COR¹⁰ oder den Rest
-(CH₂)₄-COR¹⁰ steht;
- 10 R⁷ für (C₁-C₄)-Alkyl, Benzyl, unsubstituiertes oder
durch Chlor, den Rest -COR⁸ oder den Rest
-CO-O-CO-(C₁-C₄)-Alkyl substituiertes Phenyl oder für
Naphthyl steht;
- R⁸ für Hydroxy, Methoxy, Amino oder R¹⁰ steht;
- 15 R⁹ für (C₁-C₄)-Alkyl, Hydroxymethyl, Trifluormethyl,
(C₁-C₂)-Alkoxy oder R¹¹ steht;
- R¹⁰ für den Rest
- 20
$$\begin{array}{c} \text{COR}^{12} \\ | \\ \text{-NH-CH-(CH}_2\text{)}_2\text{-COR}^{12} \end{array} \text{ steht;}$$
- R¹¹ für den Rest
- 25
$$\begin{array}{c} \text{-CH-NHR}^{14} \\ | \\ \text{R}^{13} \end{array} \text{ steht;}$$
- R¹² für Hydroxy oder (C₁-C₂)-Alkoxy steht;
- R¹³ für (C₁-C₄)-Alkyl oder Benzyl steht;
- R¹⁴ für Wasserstoff oder Benzyloxycarbonyl steht;
und ihrer tautomeren Formen sowie ihrer pharmakologisch
30 verträglichen Salze zur Vorbeugung und Behandlung von
Krankheiten, die durch einen erhöhten Stickstoffmonoxid-
Spiegel bedingt sind.
- 35

- 1
2. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß R für Wasserstoff steht und X für O oder NH steht.
- 5
3. Verwendung gemäß Anspruch 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß R^1 und/oder R^2 für Wasserstoff steht.
- 10
4. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß R^3 für (C_1-C_{10}) -Alkyloxy, Phenyloxy, Amino, Methylamino, Dimethylamino oder den Rest $-COR^{11}$ steht, bevorzugt für (C_5-C_{10}) -Alkyloxy, Amino oder den Rest $-COR^{11}$, in dem das in R^{11} enthaltene R^{14} für Benzyloxycarbonyl und das in R^{11} enthaltene R^{13} für Methyl, Isopropyl oder Benzyl steht.
- 15
5. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung pathologischer Blutdruckabfälle, insbesondere beim septischen Schock und der Tumorthherapie mit Cytokinen.
- 20
6. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung von entzündlichen Erkrankungen, insbesondere Colitis ulcerosa.
- 25
7. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung von Infarktschäden und/oder Reperfusionsschäden.
- 30
8. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung von Transplantat-Abstoßungsreaktionen.
- 35
9. Verwendung gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung und Vorbeugung von Erkrankungen des Nervensystems aus der Reihe Morbus Alzheimer, Epilepsie

1 und Migräne, wobei aber die Behandlung bzw. Vorbeugung
des Morbus Alzheimer durch Verbindungen der allgemeinen
Formel I ausgenommen ist, in der R³ für Hydroxy steht.

5 10. Pteridin-Derivate der allgemeinen Formel I,



in der

- 15 X für O, NH oder N-(C₁-C₅)-Alkanoyl steht;
R für Wasserstoff steht und
R¹ für Wasserstoff oder (C₁-C₅)-Alkanoyl steht oder
R und R¹ zusammen mit dem Stickstoffatom, an das sie
gebunden sind, eine Dimethylaminomethylenaminogruppe
20 bilden;
R² für Wasserstoff, Methyl, Phenyl, Hydroxy, Methoxy
oder Amino steht;
R³ für den Rest -OR⁴, -NR⁵R⁶ oder -S(O)_mR⁷, wobei m für
die Zahlen 0, 1 oder 2 steht, steht;
25 R⁴ für Wasserstoff, (C₁-C₁₀)-Alkyl, Cyclohexyl, Benzyl,
unsubstituiertes oder durch Chlor oder den Rest
-COR⁸ substituiertes Phenyl, unsubstituiertes oder am
Stickstoff durch einen oder zwei gleiche oder ver-
schiedene (C₁-C₄)-Alkylreste substituiertes Amino-
30 carbonylmethyl, 2-Methoxyethyl, den (2,2-Dimethyl-
1,3-dioxolan-4-yl)methyl-Rest oder den Rest -COR⁹
steht;

- 1 R⁵ für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, 2-Hydroxyethyl,
2-Chlorethyl, Benzyl, Pyridylmethyl, Phenylethyl,
Pyridylethyl oder Acetyl steht;
- 5 R⁶ unabhängig von der Bedeutung von R⁵ für die für R⁵
angegebenen Bedeutungen steht oder, wenn R⁵ für
Wasserstoff oder Methyl steht, auch für Cyclohexyl,
3-(2-Ethoxyethoxy)propyl, Benzyl, das am Phenylring
ein oder zwei Chloratome oder den Rest -COR¹⁰ trägt,
10 (C₁-C₅)-Alkanoyl, den Rest -COR¹⁰ oder den Rest
-(CH₂)₄-COR¹⁰ steht;
- R⁷ für (C₁-C₄)-Alkyl, Benzyl, unsubstituiertes oder
durch Chlor, den Rest -COR⁸ oder den Rest
-CO-O-CO-(C₁-C₄)-Alkyl substituiertes Phenyl oder für
Naphthyl steht;
- 15 R⁸ für Hydroxy, Methoxy, Amino oder R¹⁰ steht;
R⁹ für (C₁-C₄)-Alkyl, Hydroxymethyl, Trifluormethyl,
(C₁-C₂)-Alkoxy oder R¹¹ steht;
- R¹⁰ für den Rest
- 20
$$\begin{array}{c} \text{COR}^{12} \\ | \\ \text{-NH-CH-(CH}_2\text{)}_2\text{-COR}^{12} \end{array} \text{ steht;}$$
- R¹¹ für den Rest
- 25
$$\begin{array}{c} \text{-CH-NHR}^{14} \\ | \\ \text{R}^{13} \end{array} \text{ steht;}$$
- R¹² für Hydroxy oder (C₁-C₂)-Alkoxy steht;
R¹³ für (C₁-C₄)-Alkyl oder Benzyl steht;
R¹⁴ für Wasserstoff oder Benzyloxycarbonyl steht;
- 30 und ihrer tautomeren Formen sowie ihrer pharmakologisch
verträglichen Salze, wobei aber Verbindungen der allge-
meinen Formel I, in der R³ für Hydroxy steht, aus-
geschlossen sind, als pharmakologische Wirkstoffe.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 95/01731

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 A61K31/505

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X | DATABASE WPI Section Ch, Week 9414 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B02, AN 94-111951 & JP-A-06 056 669 (ASAHI BREWERIES LTD) , 1 March 1994 see abstract | 1-10 |
| X | BR. J. OF PHARMACOL., vol. 106, no. 1, 1992 pages 222-226, NETZER T. ET AL 'Effects of a new pteridine derivative on urinary sodium, potassium and magnesium excretion in conscious saline-loaded rats' see page 222, right column; example 2 | 10 |
| A | --- | 1-9 |
| | --- | -/-- |

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 September 1995

Date of mailing of the international search report

19. 10. 95

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Seegert, K

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 95/01731

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| X | EP-A-0 108 890 (THE WELLCOME FOUNDATION LTD.) 23 May 1984 cited in the application see page 8; example VII | 10 |
| A | --- | 1-9 |
| A | CA-A-2 075 346 (CORNELL RESEARCH FOUNDATION INC.) 27 June 1993 see page 10, line 13 - line 20 see page 19, line 4 - line 25; claims 1,3 ----- | 1-10 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 95/01731

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|------------------|
| EP-A-108890 | 23-05-84 | AU-B- 572792 | 19-05-88 |
| | | AU-B- 1925683 | 29-03-84 |
| | | DE-A- 3378634 | 12-01-89 |
| | | JP-C- 1828391 | 15-03-94 |
| | | JP-B- 5033229 | 19-05-93 |
| | | JP-A- 59076086 | 28-04-84 |
| | | US-A- 4665182 | 12-05-87 |
| US-A- 4701455 | 20-10-87 | | |
| ----- | | | |
| CA-A-2075346 | 27-06-93 | JP-A- 5194270 | 03-08-93 |
| ----- | | | |

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 A61K31/505

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| X | <p>DATABASE WPI Section Ch, Week 9414 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B02, AN 94-111951 & JP-A-06 056 669 (ASAHI BREWERIES LTD) , 1. März 1994 siehe Zusammenfassung</p> | 1-10 |
| X | <p>BR. J. OF PHARMACOL., Bd. 106, Nr. 1, 1992 Seiten 222-226, NETZER T. ET AL 'Effects of a new pteridine derivative on urinary sodium, potassium and magnesium excretion in conscious saline-loaded rats' siehe Seite 222, rechte Spalte; Beispiel 2</p> | 10 |
| A | <p>---</p> <p style="text-align: center;">-/--</p> | 1-9 |

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

28. September 1995

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

19. 10. 95

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Seegert, K

| C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN | | |
|--|--|--------------------|
| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
| X | EP-A-0 108 890 (THE WELLCOME FOUNDATION LTD.) 23.Mai 1984 in der Anmeldung erwähnt siehe Seite 8; Beispiel VII | 10 |
| A | --- | 1-9 |
| A | CA-A-2 075 346 (CORNELL RESEARCH FOUNDATION INC.) 27.Juni 1993 siehe Seite 10, Zeile 13 - Zeile 20 siehe Seite 19, Zeile 4 - Zeile 25; Ansprüche 1,3 ----- | 1-10 |

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 95/01731

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|--|-------------------------------|--|--|
| EP-A-108890 | 23-05-84 | AU-B- 572792 AU-B- 1925683 DE-A- 3378634 JP-C- 1828391 JP-B- 5033229 JP-A- 59076086 US-A- 4665182 US-A- 4701455 | 19-05-88 29-03-84 12-01-89 15-03-94 19-05-93 28-04-84 12-05-87 20-10-87 |
| ----- CA-A-2075346 | 27-06-93 | JP-A- 5194270 | 03-08-93 ----- |